Rev. Écol. Biol. Sol, 1980, **17** (4) : 543-557.

Étude des microhabitats contenus dans les agrégats du sol Leur relation avec la biomasse bactérienne et la taille des procaryotes présents

PAR

G. KILBERTUS *

Université de Nancy I. Laboratoire de botanique et de microbiologie
Centre de 2[e] cycle. C.O. n° 140. 54037 Nancy, France

INTRODUCTION

Les agrégats, de par leur constitution physique, leur composition chimique et biologique, représentent des microhabitats particuliers dans les sols (KILBERTUS *et al.*, 1979 b, ARPIN *et al.*, 1980). La taille de ces microniches écologiques occupées par les microorganismes, fait qu'ils sont le siège de phénomènes physiologiques nettement différents de ceux s'effectuant dans les espaces « inter-agrégats ».

Ces particularités ont déjà été soupçonnées par KHAO et CHEN (1964) et SEIFERT (1968) qui ont estimé que la répartition de ces germes était très inégale et qu'il existait des zones privilégiées. La présence d'une microflore propre à ces formations a été démontrée par différents auteurs (HATTORI, 1976 ; BALKWILL *et al.*, 1977), après sonication du sol. SKINNER (1976), en utilisant cette même technique, a prouvé que la biomasse du sol passait de 1,99 mm^3/g (3.700×10^6 germes/g) à 4,96 mm^3/g (5.500×10^6 germes/g), ce qui prouve qu'en l'absence de l'utilisation des ultra-sons, une partie importante de la microflore du sol est ignorée.

D'autres auteurs (ROVIRA et GREACEN, 1957) ont constaté que la destruction mécanique des agrégats entraînait une augmentation de l'activité respiratoire du sol, accroissement essentiellement dû à l'activité microbienne.

* E.R. n° 240 du C.N.R.S.
Reçu le 13-6-80.

Enfin de nombreuses observations en microscopie électronique ont prouvé l'existence de microniches particulières au sein des agrégats (KILBERTUS *et al.*, 1977, 1979 a, PROTH, 1978).

Au cours de cette étude, nous allons, en plus de la distribution des germes au sein des agrégats, tenter de délimiter la taille des pores colonisés, ainsi que celle des bactéries présentes.

I. — MATÉRIEL ET MÉTHODES

1. Mesure du diamètre des pores capillaires.

Les mesures ont été effectuées à partir de microphotographies dont une partie a été publiée par les auteurs suivants : KILBERTUS *et al.*, 1977, 1979 - SELINO *et al.*, 1978 - PROTH, 1978).

Elles concernent trois types de sols :

— un sol brun acide, sous hêtraie-sapinière (Vosges, France).
— une rendzine forestière (sous charme) (Essonne, France).
— un chernozem (plaines loessiques d'Ukraine, URSS).

Nous avons réalisé respectivement 100, 300 et 50 mesures.

2. Taille des germes présents.

Le diamètre des bactéries présentes dans les pores observés précédemment a été mesuré directement à partir des microphotographies. 221 mesures ont été effectuées dans le sol brun, 508 dans la rendzine, et 112 dans le chernozem.

3. Étude approfondie d'un agrégat.

Nous avons effectué des coupes sériées dans un agrégat irrégulièrement cylindrique (environ 35 µm de diamètre), préalablement fixé selon la technique de RYTER et KELLENBERGER (1958). Cette structure provenait de la rendzine forestière du parc du Muséum National d'Histoire Naturelle de Brunoy (Essonne, France). Nous avons obtenu 450 coupes de 1000 Å d'épaisseur chacune, qui ont été recueillies sur 115 grilles. Ces dernières ont été contrastées selon la méthode de REYNOLDS (1963).

Les négatifs obtenus, après observation en microscopie électronique à transmission, ont été reproduits sur papier calque, la superposition de ces derniers permettant d'apprécier le volume et la forme des pores capillaires colonisés.

Sur une fraction de cet agrégat, comprise entre la grille n° 20 et la grille n° 54, nous avons fait différentes mesures :

— Sur chaque coupe nous avons évalué la surface So des pores colonisés. En estimant que la taille moyenne d'une bactérie du sol est comprise entre 0,5 et 1 µm (cf. BALKWILL *et al.*, 1975, 1977 ; KILBERTUS *et al.*, 1978, 1979 a et b ; PROTH, 1978), le nombre N de germes dénombrés sur une surface So correspond à celui des bactéries colonisant un volume :

$$Vo = So \times 1\ \mu m$$

— Le volume total de cette portion d'agrégat étant : $V = S \times 1\ \mu m$, le volume moyen colonisé par les bactéries, en %, sera :

$$V\ col = \frac{Vo \times 100}{V}$$

et le taux d'occupation des pores, c'est-à-dire le nombre de bactéries par unité de volume sera :

$$Toc = \frac{N}{Vo}$$

— En tenant compte des résultats obtenus, on peut en déduire la biomasse bactérienne pour 1 ml de sol analysé.

II. — RÉSULTATS

1. Diamètre des pores capillaires.

En prenant en compte la taille des bactéries (une cellule occupant un volume de 2 μm^3), HATTORI (1976) a estimé que le diamètre moyen des pores le plus favorable au développement des procaryotes était compris entre 2 et 6 µm. De plus, selon cet auteur, seuls les agrégats de plus de 20 µm sont susceptibles de renfermer de tels microhabitats potentiels. Cette hypothèse reposait sur plusieurs observations et travaux :

— la rétention d'eau capillaire s'effectue entre pF 4,5 et 2,7 ce qui correspondrait à un diamètre moyen des pores allant de 6 à 0,1 µm ;

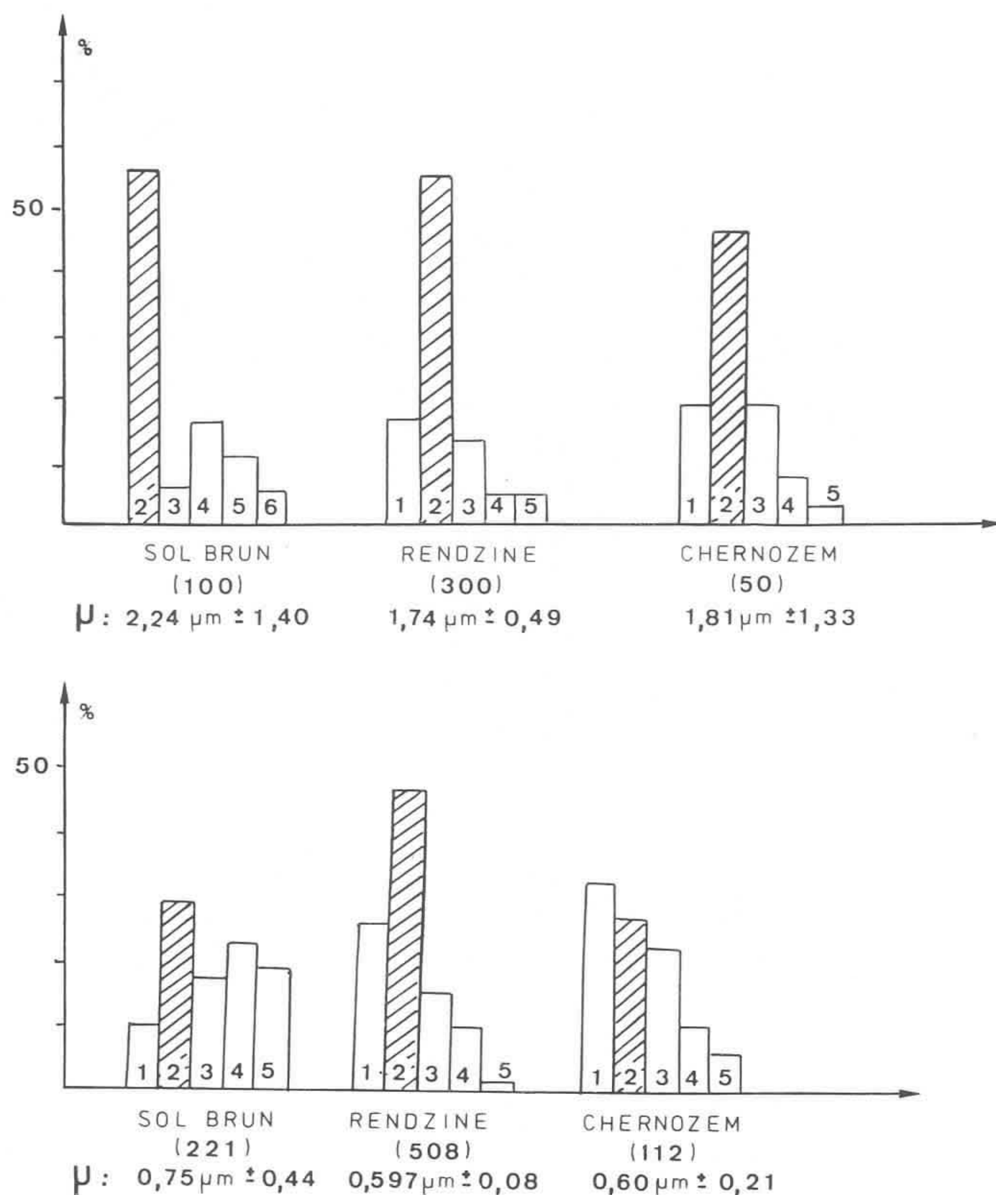
— les expériences de SEIFERT (1965), cet auteur ayant prouvé que la nitrification était stimulée par une addition d'eau au sol, jusqu'à pF 2,7. Au-delà, un accroissement de la quantité d'eau n'influait plus l'activité microbienne. Des résultats similaires ont été obtenus par MOSER et OLSON (1953) qui étudiaient l'influence de la tension hydrique sur l'oxydation du soufre ;

— les recherches de TANAKA et SAKAMOTO (1972) qui ont pu constater que le nombre de bactéries d'un sol augmentait avec la quantité d'eau ajoutée à ce dernier, jusqu'à un seuil critique (correspondant à une valeur du pF comprise entre 2,7 et 3,0) spécifique de chaque sol étudié.

A partir de photographies obtenues en microscopie électronique, nous avons pu vérifier cette hypothèse, en mesurant dans trois types de sols différents le diamètre des pores renfermant des microorganismes, dans les agrégats observés (Fig. 1). Le plus petit diamètre de pores contenant encore des bactéries était de 0,8 µm. Cette catégorie de pores a été rencontrée dans la rendzine (28 %) et dans le chernozem (30 %), mais elle était absente dans le sol brun. Les pores contenant des cellules et de diamètre supérieur à 5 µm n'ont été vus que dans le sol brun et la rendzine (le diamètre le plus élevé, 10 µm, ayant été mesuré dans le sol brun).

Dans les trois sols que nous avons étudiés, les microhabitats les plus nombreux sont ceux qui possèdent un diamètre compris entre 1 et 2 µm, la majorité des mesures se situant entre 0,8 et 3 µm.

Ces chiffres sont quelque peu inférieurs à ceux proposés par HATTORI (1976) : de 2 à 6 µm. Cependant la taille des bactéries, proposée par cet auteur dans son estimation est certainement supérieure à la réalité, c'est pourquoi nous avons également recherché le diamètre moyen des procaryotes telluriques.



FIGS. 1-2. — *Fig. 1 (en haut)* : Diamètre des pores capillaires colonisés par les bactéries. Résultats exprimés en % par rapport au nombre total de pores mesurés.

(100) : nombre de pores mesurés.
1. ⩽ I μm
2. ⩽ 2 μm
3. ⩽ 3 μm
4. ⩽ 4 μm
5. ⩽ 5 μm
6. > 5 μm

μ : moyenne.

Fig. 2 : Diamètre des bactéries colonisant les pores capillaires. Résultats exprimés en % par rapport à la totalité des mesures effectuées.

(221) : nombre de mesures effectuées.
1. 0,3 à 0,4 μm
2. 0,5 à 0,6 μm
3. 0,7 à 0,8 μm
4. 0,9 à 1 μm
5. > 1 μm

μ : moyenne.

2. **Taille des bactéries.**

La catégorie de bactéries la plus fréquente dans le sol brun et dans la rendzine est celle dont le diamètre est compris entre 0,5 et 0,6 μm, alors que dans le chernozem c'est celle dont le diamètre des germes va de 0,3 à 0,4 μm (Fig. 2).

Le diamètre moyen des microorganismes est de 0,75 μm ± 0,44 (sol brun), 0,597 ± 0,084 (rendzine) et 0,60 ± 0,21 (chernozem). Ces chiffres varient dans le même sens que ceux des diamètres moyens des pores (Tab. I).

TAB. I

Relations entre le diamètre moyen D des pores et le diamètre moyen d des bactéries

Sols	Diamètre D des pores	Diamètre d des bactéries	Rapport d/D
Sol brun acide........	2,24 μm ±1,40	0,75 μm ±0,44	0,334
Rendzine............	1,74 μm ±0,49	0,597 μm ±0,084	0,343
Chernozem...........	1,81 μm ±1,33	0,60 μm ±0,21	0,331

Dans le cas de nos trois sols, très différents quant à leur origine et à leur couverture végétale, le rapport d/D est toujours voisin de 1/3. Le diamètre minimum des pores, dans notre expérience étant de 0,8 μm, on peut en déduire l'espace vital minimum nécessaire au développement d'un procaryote : 0,8 μm^3.

Ces chiffres proposés pour le diamètre moyen des cellules sont proches de ceux proposés par BALKWILL *et al.* (1975) et de ceux publiés par ZVYAGINTSEV (1964). Ils confirment que la taille des procaryotes du sol est nettement plus petite que celle de ces mêmes germes se développant sur milieux de culture.

3. **Étude approfondie d'un agrégat.**

a) *Morphologie des pores colonisés* (Fig. 3).

De volume très variable, ces microhabitats peuvent être, selon HATTORI (1976), classés en trois catégories, selon leurs relations avec les espaces « inter-agrégats » :

— pores fermés ;
— pores avec une seule ouverture de diamètre variable ;
— pores avec deux ou plusieurs ouvertures.

La présence des ouvertures conditionne la circulation de l'eau et de l'air à l'intérieur des agrégats et elle est directement responsable du pF ou des conditions d'aéro-anaérobiose régnant dans ces microhabitats.

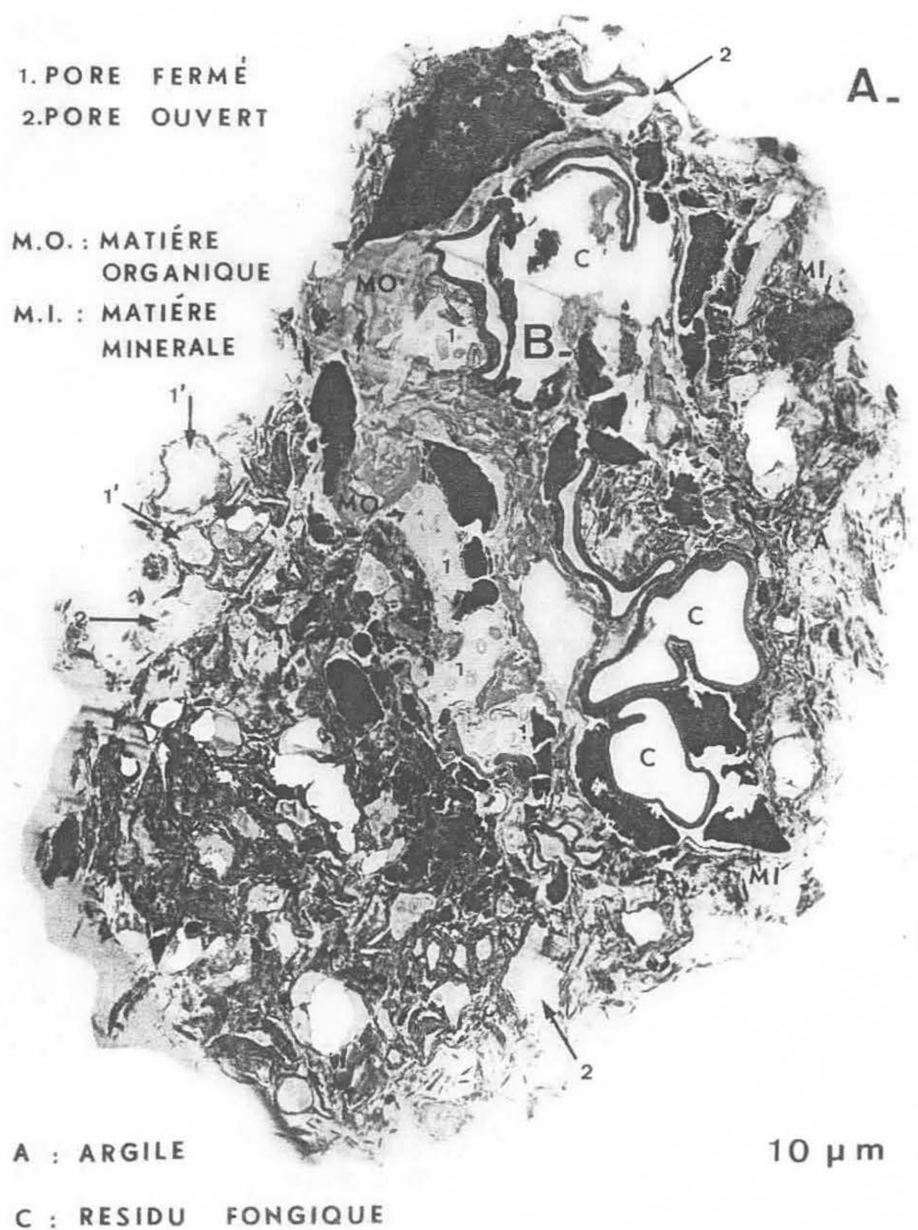


FIG. 3. — Coupe dans un agrégat mettant en évidence la répartition des bactéries, la présence de pores de types 1 et 2, de matières organiques (MO) ou minérales (MI) ainsi que des feuillets d'argiles.
A : espace « inter-agrégat », B : agrégat (voir fig. 9).
I' : probablement pore du type I (voir texte).

Les coupes sériées effectuées dans un agrégat provenant de la rendzine de Brunoy nous ont permis de confirmer ces expériences. La superposition des calques obtenus à partir des négatifs nous a révélé que plus de 95 % des microniches observées avaient la forme d'une sphère ou d'un cylindre et, dans ce dernier cas, le diamètre restait relativement constant.

Dans la figure 3, nous n'avons représenté qu'une seule des coupes effectuées dans l'agrégat (grille n °32). La répartition des bactéries est variable. Ces germes sont cependant plus abondants à proximité immédiate des matières organiques subsistantes ou dans les concentrations de feuillets d'argile. Ils colonisent les pores capillaires, mais ne se rencontrent jamais à l'intérieur des loges fongiques vides.

Les principales catégories de pores définies par HATTORI (1976) sont retrouvées. Les pores du type I (fermés) sont essentiellement observés au sein de l'agrégat (Fig. 3.1 et fig. 4). Ceux du type 2 (une seule ouverture) sont présents à la périphérie (Fig. 3.2 et Fig. 5). Les pores du type 3 (2 ou plusieurs ouvertures) n'ont été vus qu'exceptionnellement.

Les pores du type 2 et 3 ont pu être colonisés par les germes après la formation de la partie principale de l'agrégat, comme en témoigne la fig. 6, les bactéries étant logées dans des cavités largement ouvertes. Mais ce type de microhabitat est susceptible d'évoluer par adjonction progressive de feuillets d'argiles supplémentaires (Fig. 7) ce qui va progressivement le transformer en pore du type I (Fig. 3.1′ et fig. 8). Ce dernier peut avoir une autre origine (pore 1′) : des colonies de microorganismes peuvent se recouvrir de phyllosilicates et former dès le départ un pore du type I (KILBERTUS *et al.*, 1978, EL BALKHI *et al.*, 1978, KILBERTUS et PROTH, 1978).

b) *Volume colonisé de l'agrégat.*

Compte tenu du diamètre moyen des bactéries (0,596 μm ± 0,08), on peut admettre que le nombre de germes dénombrés sur une coupe correspond à la quantité de procaryotes présents dans un volume V, la base étant constituée par la surface S de l'agrégat et la hauteur égale à 1 μm. On peut en déduire, en mesurant la surface So occupée par des bactéries, le volume $Vo = So \times 1$ μm.

Le volume colonisé de l'agrégat, Vcol, exprimé en % par rapport à la totalité de l'agrégat sera donc de :

$$Vcol = \frac{Vo \times 100}{V}$$

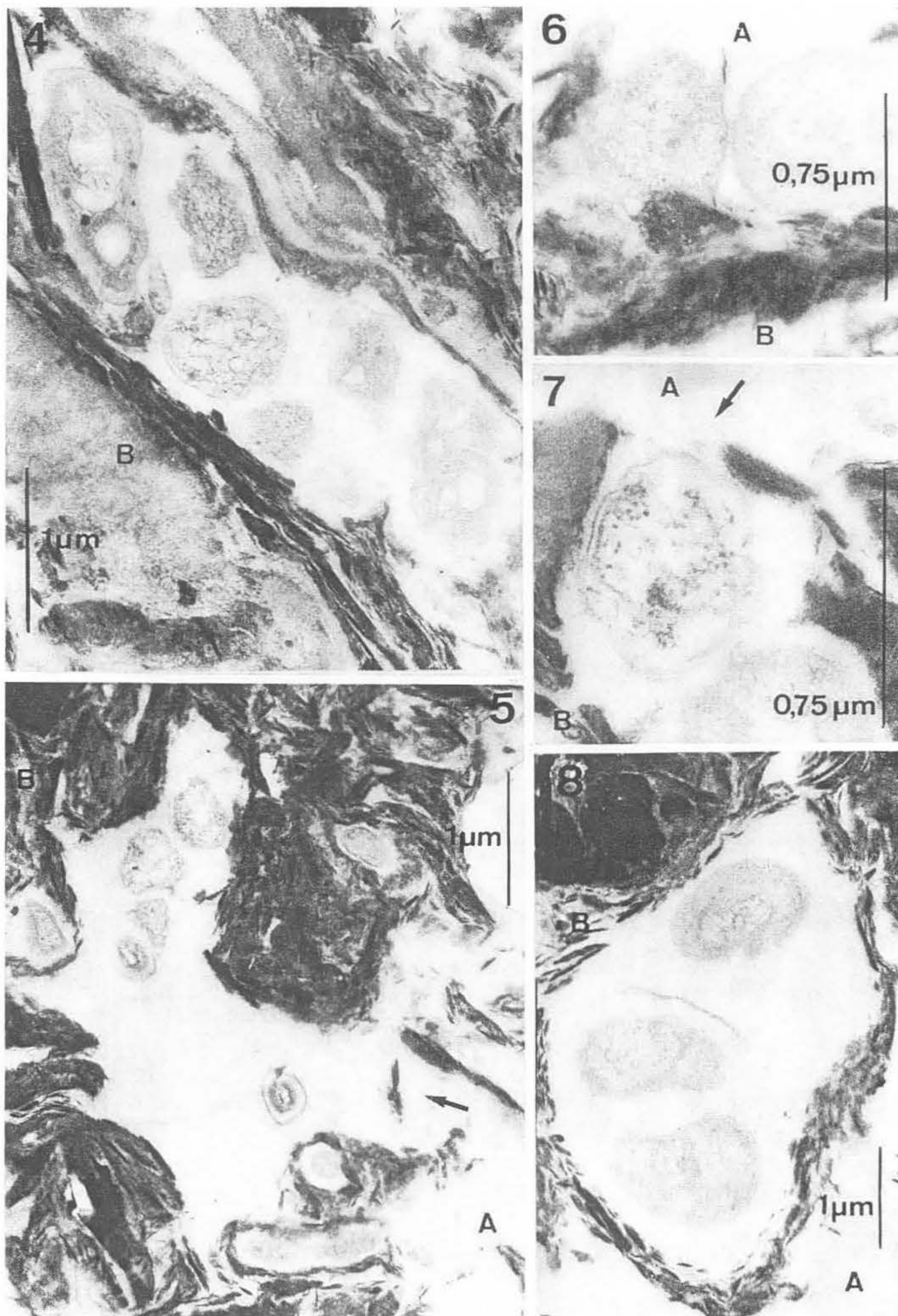
Ce pourcentage colonisé de l'agrégat (Tab. II) est de 6,21 % ± 1,48, le chiffre le plus élevé étant 9,35, le plus faible 3,80.

c) *Taux d'occupation des pores.*

Ce taux de colonisation est défini par la formule :

$Toc = \frac{N}{Vo}$ où N représente le nombre total de bactéries dénombrées sur une coupe et Vo le volume total occupé par les cellules dans une coupe d'agrégat de 1 μm d'épaisseur. Ce taux est exprimé en nombre de microorganismes par unité de volume : le μm^3.

Le chiffre moyen obtenu est de 0,80 ± 0,21, le nombre le plus grand étant 1,25, le plus petit 0,40 (Tab. II).



FIGS. 4-8. — *Fig. 4* : Pore du type I (fermé) ; *Fig. 5* : Pore du type 2 (avec ouverture : flèche) ; *Fig. 6* : Bactéries nichées dans une cavité largement ouverte, préfigurant un pore du type 2 ; *Fig. 7* : Cavité du type précédent (figure 6) s'étant transformée en pore du type 2 par adjonction de feuillets d'argile. Ouverture : flèche ; *Fig. 8* : Pore du type I', trouvé à la périphérie de l'agrégat.

TAB. II

Calcul de différents paramètres à partir de 18 coupes effectuées dans le même agrégat

N : nombre de bactéries vivantes dénombrées sur une coupe.
Vo : volume colonisé par les bactéries : So × 1 μm.
V : volume S × 1 μm de l'agrégat.
V col : % du volume total de l'agrégat colonisé par les germes.
Toc : nombre de germes par unité de volume colonisée : μm³.
N/ml : nombre de bactéries par ml × 10⁸.
Vb/ml : volume occupé par la biomasse bactérienne en ml × 10^{-2} par ml d'agrégat.

Nº de la grille	N	Vo	V	Vcol %	Toc	N/ml × 10^8	Vb/ml en ml × 10^{-2}
20	24	32	342	9,35	0,75	70,1	0,4184
22	42	40	720	5,55	1,05	58,3	0,3480
24	26	28	400	7,00	0,92	65,0	0,3880
26	14	16	420	3,80	0,87	33,3	0,1980
28	30	36	460	7,82	0,83	65,2	0,3892
30	26	48	720	6,66	0,54	36,1	0,1886
32	47	48	735	6,53	0,97	63,9	0,3814
34	21	32	732	4,37	0,65	28,6	0,1707
36	21	32	560	5,71	0,65	37,5	0,2238
38	14	20	400	5,00	0,70	35,0	0,2089
40	38	72	1040	6,92	0,52	36,5	0,2179
42	26	64	1040	6,15	0,40	25,0	0,1492
44	25	28	360	7,77	0,89	69,4	0,4143
46	20	16	360	4,44	1,25	55,5	0,3313
48	40	48	600	8,00	0,83	66,6	0,3976
50	29	28	640	4,37	1,03	45,3	0,2704
52	54	67	1040	6,44	0,94	51,9	0,3098
54	28	36	600	6,00	0,77	46,6	0,2782
Moyennes........	29,16	38,89	626,70	6,21 ±1,48	0,80 ±0,21	49,4 ±15,3	0,2935 ±0,0923

En plus des données résultant de l'aspect ultrastructural des germes traduisant un certain degré d'activité (KILBERTUS *et al.*, 1979 a), ce taux d'occupation des pores constitue un indicateur d'activité très précieux, car la quantité de procaryotes présents dans ces niches écologiques est directement en relation avec la quantité d'aliments disponible et fonction des conditions ambiantes favorables ou non au développement des germes.

d) *Biomasse microbienne.*

En prenant en compte les données résultant du dénombrement des bactéries sur une seule coupe de l'agrégat, on peut en déduire le nombre théorique de germes présents dans un agrégat de 1 ml Tab. II). Le chiffre moyen

obtenu est de $49,4 \times 10^8 \pm 15,3$ bactéries/ml, les quantités les plus importantes étant $70,1 \times 10^8$/ml et les moindres $25,0 \times 10^8$/ml.

A titre indicatif, les dénombrements effectués par suspension-dilution sur milieu nutritif gélosé, pour le même échantillon de sol, ont donné les résultats figurés dans le tableau III.

TAB. III

Nombre de bactéries obtenues par suspension-dilution sur milieu nutritif gélosé × 10^6
Sol recueilli entre 0 et — 1,5 cm

20,2 - 55,0 - 41,5 - 12,1 - 29,2 - 17,7 - 32,5 - 59,0 - 20,9 - 18,9	Moyenne : $30,7 \times 10^6 \pm 16,2$

Les calculs à partir d'examens en microscopie électronique à transmission, permettent donc de dénombrer plus de 100 fois plus de bactéries « vivantes » dans un sol que n'en révèle la suspension-dilution. Il est certain que si l'on considère un agrégat de 626,7 μm^2 (Tab. II) de base et si l'on admet que son volume est un cube, ce volume sera de $0,3927 \times 10^{-6}$ cm^3 et les 4 940 bactéries qu'il est susceptible de contenir ne donneront naissance qu'à un nombre limité de colonies sur milieu de culture, d'où une erreur extrêmement importante.

Si l'on tient compte de la taille moyenne des germes du sol (0,597 µm de diamètre), le volume moyen occupé par la biomasse bactérienne dans cet agrégat de 1 ml sera : $0,2935 \times 10^{-2}$ ml pour un volume total colonisé de 6,21 %.

III. — CONCLUSIONS

Les sols possédant une structure en agrégats renferment deux catégories de microhabitats dont la constitution physique et chimique ainsi que la composition qualitative et quantitative de la microflore sont nettement différentes (CURRIE, 1961 ; SKINNER, 1976 ; KILBERTUS et VANNIER, 1980) :

— les agrégats eux-mêmes qui contiennent des pores dont le diamètre moyen est proche de 2 µm et toujours inférieur à 10 µm dans le cas de notre expérience. Ce sont, d'après HATTORI (1976), les microhabitats les plus favorables aux microorganismes ;

— les pores de grande taille, situés entre les agrégats et dont le diamètre moyen est toujours supérieur à 10 µm.

Cette différence de taille influe directement sur deux facteurs conditionnant la présence et le développement des germes telluriques (Fig. 9) : l'eau et la composition en gaz.

Dans le biotope A, entre les agrégats, la circulation de l'eau est rapide et le transport des aliments sous forme dissoute ou figurée en est facilité

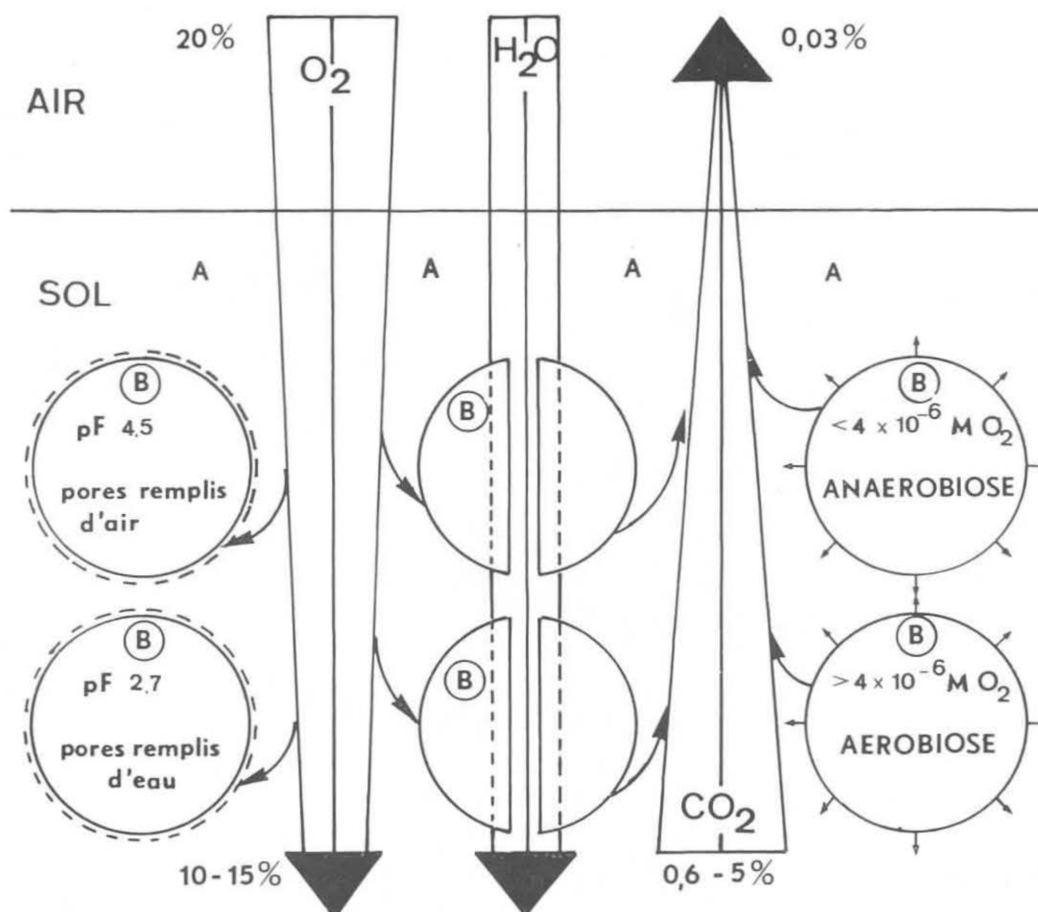


FIG. 9. — Diffusion des gaz et circulation de l'eau dans les espaces inter-agrégats A et les agrégats B.

(KILBERTUS et VANNIER, 1980). Il en est de même de la diffusion des gaz. Cette partie du sol est susceptible d'être soumise à des conditions drastiques. La microflore qui la colonise (champignons du sol, actinomycètes, bactéries Gram + en particulier) (KILBERTUS *et al.*, 1979 a ; PROTH, 1978) varie de ce fait rapidement en fonction des conditions externes et elle n'est peut-être pas caractéristique des sols étudiés.

Par contre les conditions régnant dans les pores capillaires, en B, sont beaucoup moins fluctuantes et cette faible variabilité est fonction du diamètre du pore considéré :

a) Le potentiel hydrique total Ψ d'un sol, généralement confondu avec le potentiel matriciel de ce milieu Ψm et il est caractérisé par la formule :

$$\Psi m = V \frac{2\sigma}{r}$$

où V est le volume spécifique du liquide, σ la tension de surface du liquide et r le rayon du pore capillaire. On désigne fréquemment ce potentiel matriciel par son logarithme représenté par le symbole pF (SCHOFIELD, 1935 ; SMART, 1975) et la formule précédente devient :

$$pF = \log 0{,}15 - \log r.$$

b) La diffusion des gaz est également liée à la taille des pores comme l'a démontré BAVER (1961) dans un modèle mathématique simplifié :

$$D = Do.\ S\ \frac{1}{10}$$

où D est le coefficient de diffusion du gaz dans le sol, Do le coefficient de diffusion du gaz dans l'air, S la section des pores libres, non occupés par l'eau et 1/10 un coefficient de « tortuosité » du gaz.

Nous voyons donc que dans les deux cas, une bonne appréciation du diamètre des pores peut contribuer à une meilleure interprétation de ces paramètres et par conséquent expliquer en partie le développement des microorganismes dans les pores capillaires du sol.

Compte tenu de la circulation de l'eau et de la diffusion des gaz, le biotope tellurique peut se schématiser selon la figure 9 :

— entre les agrégats ; l'eau circule facilement et la tension en oxygène passe de 20 % à 10-15 % ; par contre la tension en CO_2 est plus importante puisqu'elle peut atteindre 0,6 à 5 % dans ce milieu contre 0,03 % dans l'atmosphère. Dans ces zones, les conditions d'anaérobiose ne sont réalisées que dans des cas exceptionnels. Mais en période de sécheresse, le pF peut descendre rapidement au-dessous de 4,5. Ces régions qui sont susceptibles d'être soumises à des modifications rapides et drastiques sont colonisées par des microorganismes capables de produire des formes de résistance (chlamydospores, sclérotes, endospores) (HATTORI, 1973 ; KILBERTUS *et al.*, 1977) ou par des procaryotes tels que les actinomycètes qui possèdent des spores supportant très bien de longues périodes de dessiccation (SZABO *et al.*, 1964) ;

— si la suface des agrégats est encore bien aérée, il n'est pas de même de l'intérieur. La circulation de l'eau et des gaz est brutalement freinée par le diamètre des pores capillaires qui est voisin de 2 μm. Les rétentions d'eau par capillarité sont très importantes et le degré hygrométrique reste élevé jusqu'à pF 4,5, alors que les espaces « inter-agrégats » sont déjà desséchés.

L'exiguïté de ces microhabitats, en rapport avec la taille des bactéries (l'espace vital minimum pour une bactérie étant de 0,8 μm^3, et les difficultés de diffusion des gaz font également que les conditions d'anaérobie (sous 4×10^{-6} M d'oxygène) peuvent se réaliser très vite. Cette diminution de la concentration en oxygène jusqu'au seuil critique de 4×10^{-6} M est d'autant plus rapide, que le taux d'occupation des pores capillaires par la microflore est plus important.

Ces niches écologiques sont occupées, en majorité, par des germes dépourvus de formes de résistance, en particulier des bactéries Gram- (KILBERTUS *et al.*, 1977 ; PROTH, 1978). Cette protection par les argiles des agrégats peut expliquer la persistance de cette catégorie de germes dans les sols, après des conditions très sévères. Enfin le diamètre réduit des pores protège également les procaryotes vis-à-vis des prédateurs du type protozoaire par exemple.

Cette étude avait pour but de mettre l'accent sur l'importance des pores colonisés à l'intérieur des agrégats de différents sols, et de caractériser, dans le cas d'un modèle représenté par un seul agrégat, le volume occupé par les

microorganismes et le taux d'occupation de ces sites. Dans une étude actuellement en cours, nous allons tenter d'appliquer ce modèle à deux sols et de prouver que la microscopie électronique à transmission peut constituer un outil fiable et précis pour les études quantitatives dans les milieux telluriques.

RÉSUMÉ

Les diamètres des pores contenus dans les agrégats et colonisés par les bactéries ont été mesurés dans trois sols différents : une rendzine, un sol brun acide et un chernozem. Les résultats obtenus confirment les hypothèses de HATTORI (1976) : le diamètre moyen de ces pores est voisin de 2 μm.

La taille des bactéries, bien que variable en fonction des milieux considérés, est toujours inférieure au micron : entre 0,60 et 0,75 μm selon les sols, mais les rapports d/D (diamètre moyen des bactéries / diamètre moyen des pores) est constant et égal à 1/3.

Dans une troisième partie, nous avons étudié un « modèle » représenté par un agrégat (rendzine) et dans lequel nous avons effectué 450 coupes sériées. Nous avons pu en déduire que seul 6,21 % de l'agrégat était colonisé par les procaryotes et que les $49{,}4 \times 10^8$ germes/ml d'agrégat représentent un volume de biomasse bactérienne de $0{,}2935$ ml $\times 10^{-2}$/ml d'agrégat.

L'importance et la taille de ces pores est ensuite discutée, en relation avec les phénomènes de diffusion gazeuse et le pourcentage d'eau contenu dans les agrégats.

SUMMARY

The diameter of pores contained in aggregates and colonized by bacteria was mesured in three different soils : a rendzina, and acid brown soil and a chernozem. Results confirmed the hypotheses of Hattori (1976) : the mean diameter of pores is close to 2 μm.

The size of bacteria, although variable according to the soil, was always less than 1 μm : between 0.60 and 0.75 μm ; but the d/D ratio (mean diameter of bacteria/mean diameter of pores) was constant, viz. 1/3.

In the third part of this study, a « model » (an aggregate from a rendzina) was serially cut on the ultramicrotome and the resulting 450 sections examined in the transmission electron microscope : only 6.21 % of the aggregate was colonized by procaryotes and the 49.4×10^8 cells/ml aggregate had a biomass of 0.2935 ml $\times 10^{-2}$/ml aggregate.

The importance of pore size is discussed and related with gaz diffusion and water content in aggregates.

BIBLIOGRAPHIE

ARPIN (P.), KILBERTUS (G.), PONGE (J. F.) et VANNIER (G.), 1980. — Importance de la microflore et de la microfaune en milieu forestier. (*in*, « Actualités d'écologie forestière. Sol, Flore, faune » P. Pesson ed.), Gauthier Villars, Paris : 87-150.

BALKWILL (D. L.), LABEDA (D. P.) et CASIDA (Jr L. E.), 1975. — Simplified procedures for releasing and concentrating microorganisms from soil for transmission

electron microscopy viewing as thin-sectioned and frozen-etched preparations. *Can. J. Microbiol.*, **21**: 252-262.

BALKWILL (D. L.), RUCINSKY (T. E.) et CASIDA (Jr L. E.), 1977. — Release of microorganisms from soil with respect to transmission electron microscopy viewing and plate counts. *Antonie van Leewenhoek,* **43**: 73-87.

BAVER (L. D.), 1961. — Soil Physics. John Wiley, New York.

CURRIE (J. A.), 1961. — Gaseous diffusion in the aeration of aggregated soils. *Soil Sci.,* **92**: 40-45.

CURRIE (J. A.), 1965. — Diffusion within soil microstructure : a structural parameter for soil. *J. Soil. Sci.,* **16**: 279-289.

EL BALKHI (M.), MANGENOT (F.), PROTH et KILBERTUS (G.), 1978. — Influence de la percolation d'une solution de saccharose sur la composition qualitative et quantitative de la microflore bactérienne d'un sol. *Soil Sci. Plant Nutr.,* **24**: 15-25.

HATTORI (T.), 1973. — Microbial life in the soil. An introduction. Dekker, New York, 427 p.

HATTORI (T.), HATTORI (R.), 1976. — The physical environment in soil microbiology : an attempt to extent principles of microbiology to soil microorganisms. CRC, Critical Reviews in Microbiology : 423-461.

KILBERTUS (G.), PROTH (J.), 1978. — Différences microbiologiques et ultrastructurales entre trois sols de la Guyane Française. Influence du couvert forestier. *103e Congrès National des Sociétés savantes, Nancy, 1978,* Sciences, **1**: 331-345.

KILBERTUS (G.), VANNIER (G.), 1980. — Rôle des insectes Collemboles et des microorganismes dans les processus de migration de la matière organique et minérale. Colloque CNRS « Migration organominérales dans les sols tempérés », Septembre 1979.

KILBERTUS (G.), PROTH (J.) et MANGENOT (F.), 1977. — Sur la répartition et la survivance des microorganismes du sol. *Bull. Soc. Acad. Lorr. Sci.,* **16**: 93-104.

KILBERTUS (G.), KIFFER (E.) et PROTH (J.), 1978. — Influence des racines asymbiotiques et des mycorrhizes de *Picea abies* (L.) Karst sur la microflore tellurique. *Rev. Ecol. Biol. Sol,* **15**: 297-310.

KILBERTUS (G.), PROTH (J.) et VERDIER (B.), 1979 a. — Effets de la dessiccation sur les bactéries Gram négatives d'un sol. *Soil Biol. Biochem.,* **2**: 109-114.

KILBERTUS (G.), PROTH (J.) et MANGENOT (F.), 1979 b. — Variations saisonnières de la microflore d'un sol forestier. *Ann. Microbiol.* (Inst. Pasteur), **130 B**: 63-77.

KHAO (Yu S.), CHEN (L. Ts), 1964. — Composition of micro-organisms in aggregates of different diameters. *Acta pedol. sin.,* **12:** 192-195.

MOSER (U. S.), OLSON (R. V.), 1953. — Sulfur oxidations in four soils as influenced by soil moisture tension and sulfur bacteria. *Soil Sci.,* **76**: 251.

PROTH (J.), 1978. — Évolution de la microflore d'une rendzine forestière récemment privée de ses apports naturels en litière de charme. Étude microbiologique et ultrastructurale. Thèse de 3e cycle, University de Nancy I, 215 p.

REYNOLDS (E. S.), 1963. — The use of the lead citrate at high pH as an electron opaque stain in electron microscopy. *J. Cell. Biol.,* **17**: 176-191.

ROVIRA (A. D.), GREACEN (E. L.), 1957. — The effect of aggregate disruption on the activity of microorganisms in the soil. *Aust. J. agric. Res.,* **8**: 659-673.

RYTER (A.), KELLENBERGER (E.), 1958. — Étude au microscope électronique de plasma contenant de l'acide désoxyribonucléique. I. Les nucléiotides des bactéries en croissance active. *Z. Naturforschg.*, **136**: 597-605.

SCHOFIELD (R. K.), 1935. — The pF of water in soil. Trans 3rd Int. Congr. *Soil Sci.*, **2**: 37.

SEIFERT (J.), 1965. — The ecology of soil microbes. *Acta Univ. Carol.*, **3**: 245.

SEIFERT (J.), 1968. — Determination of weight of bacterial biomass in the soil. *Acta Univ. Carol.*, 289-294.

SELINO (D.), PROTH (J.), BRUCKERT (S.) et KILBERTUS (G.), 1978. — Analyse d'un mode d'agrégation dans les sols brunifiés acides. 103e Congrès National des sociétés savantes, Nancy, 1978, Sciences, **1**: 75-86.

SKINNER (F. A.), 1976. — Methodology in soil examination. *Soc. appl. Bacteriol., Symp., USA*, **4**: 19-35.

SZABO (I.), MARTON (M.) et VARGA (L.), 1964. — Untersuchungen über die Heitzresistenz Temperatur und Feuchtigkeitanspruche der Mikroorganismen einses mullartiguen Waldrensinabodens. *Pedobiologia*, **4**: 43-66.

TANAKA (H.), SAKAMOTO (M.), 1972. — Studies on soil physical conditions and the ecology of soil burne disease bacteria. 4. The relationships between bacterial numbers and eithers soil water potential (pF) or moisture content. *Bull. Inst. Agric. Res. Tohoku Univ.*, **23**: 141.

ZVYAGINTSEV (M. V.), 1964. — Study of shapes and sizes of soil microorganisms with the fluorescence microscope. *J. Soil Sci.* : 307-310.